

# VU Research Portal

## Nickel hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*: a rare micro-evolutionary event

Richau, K.H.

2009

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Richau, K. H. (2009). *Nickel hyperaccumulation in Thlaspi caerulescens: a rare micro-evolutionary event*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## Samenvatting

### **Hyper accumulatie van nikkel in *Thlaspi caerulescens*: een zeldzame micro-evolutionaire gebeurtenis**

Hyperaccumulatie van zware metalen is een betrekkelijk zeldzame eigenschap in het plantenrijk. Hoewel in de laatste jaren wel degelijk vooruitgang is geboekt, zijn de onderliggende fysiologische en moleculaire mechanismen, maar ook de ecologische aanpassingswaarde van dit fenomeen nog verre van volledig opgehelderd. In vergelijking met ‘normale’ planten worden hyperaccumulatoren gekarakteriseerd door een verhoogde metaalopnamecapaciteit, een versnelde translocatie van de opgenomen metalen van de wortel naar het blad, en een zeer efficiënte ontgiftiging van deze metalen door opslag in de vacuoles van bladcellen. De Zinkboerenkers (*Thlaspi caerulescens*), een hyperaccumulator van zink (Zn) maar soms ook van cadmium (Cd) of nikkel (Ni), biedt goede kansen om de overervings- en werkingsmechanismen van het hyperaccumulatiesyndroom verder te analyseren. Deze soort bezit namelijk een hoge mate van erfelijke variatie in metaalopname, metaaltranslocatie, en metaaltolerantie. Bovendien is die variatie grotendeels metaalspecifiek. Verder is de DNA sequentie van de Zinkboerenkers ongeveer 89% identiek met die van de modelsoort van de plantengenetica, *Arabidopsis thaliana* (de Zandraket), en dat maakt het mogelijk om de veelheid aan moleculaire technieken en de genomische informatie die voor de Zandraket beschikbaar zijn, ook op de Zinkboerenkers toe te passen.

Het in dit proefschrift beschreven werk was er in eerste instantie op gericht om een beter inzicht te verkrijgen in de genetische basis van de variatie in de hyperaccumulatie van, en de tolerantie voor Zn en Ni binnen de Zinkboerenkers. Daartoe werden twee lokale populaties met contrasterende eigenschappen vergeleken,

namelijk één van een sterk met zink en cadmium vervuilde bodem bij La Calamine (LC, België), en één van een nikkelrijke ‘serpentijnbodem’ op de berg Monte Prinzera (MP, Italië). Ook werd een LC plant gekruist met een MP plant. Het nageslacht van deze kruising werd gebruikt om vast te stellen in hoeverre de accumulatie van Zn en Ni, en de accumulatie van en de tolerantie voor Ni, door dezelfde of door verschillende genen bepaald wordt. Uit de resultaten bleek dat MP planten veel meer Ni, maar ook meer Zn in hun bladeren accumuleren dan LC planten. MP planten waren gemiddeld ook meer nikkeltolerant dan LC planten. Uit een analyse van de variantie en de covariantie van deze eigenschappen in de F3 generatie van de kruising bleek dat de variatie in nikkel- en zinkaccumulatie binnen deze generatie voor respectievelijk 70 en 59% door erfelijke factoren (genen) bepaald wordt. De onderlinge genetische correlatie van deze eigenschappen was 77%, d.w.z. de variatie in beide eigenschappen wordt grotendeels door identieke genen gecontroleerd. Ook de variatie in nikkeltolerantie bleek deels erfelijk te zijn ( $\pm 50\%$ ), maar was in het geheel niet gecorreleerd met de variatie in nikkelaccumulatie.

Een tweede doel van het onderzoek was het ophelderen van de rol van het aminozuur histidine (His) in het hyperaccumulatiesyndroom. Daartoe werden de His concentraties in wortel en blad en het effect van extern aangeboden His op het nikkeltransport van wortel naar blad, via het xyleem, vergeleken bij een aantal lokale populaties van de Zinkboerenkers en een populatie van de Witte Krodde (*Thlaspi arvense*), een verwante niet-hyperaccumulerende soort. Ook werden vacuolaire membranen geïsoleerd uit twee contrasterende populaties van de Zinkboerenkers en uit de Witte Krodde. De nikkeltransportcapaciteit van deze ‘tonoplastfracties’ werd vergeleken, waarbij Ni aangeboden werd als Ni-citraat complex, Ni-His complex, of als Ni-sulfaat.

Ook werd, bij dezelfde populaties, de verdeling van Ni over verschillende wortelsegmenten en wortelweefsels vastgesteld, het laatste met behulp van een histochemische kleuring van Ni met dimethylglyoxime. Het bleek dat alle populaties van de Zinkboerenkers een ongeveer tien maal zo hoge concentratie His in hun wortels hebben dan de Witte Krodde. De concentratie His in het blad was veel lager dan in de wortel en nauwelijks verschillend van de Witte Krodde. Extern aangeboden His verhoogde het Ni transport via het xyleem bij de Zinkboerenkers, maar niet bij de Witte Krodde, ondanks het feit dat beide soorten de aangeboden His in gelijke mate opnamen. De nikkeltransportcapaciteit van de gezuiverde 'tonoplastfracties' was vooral verschillend wanneer Ni aangeboden werd als Ni-His complex. In dit geval was er nauwelijks meetbaar transport bij de Zinkboerenkers, maar ongehinderd transport bij de Witte Krodde. De verdeling van Ni over wortelsegmenten en – weefsels was zeer verschillend, namelijk geconcentreerd in de rhizodermis van de meristematische zone van de worteltoppen bij LC, en min of meer verspreid over de gehele wortel, inclusief de cortex, bij MP en de Witte Krodde. Uit de combinatie van experimenten kan geconcludeerd worden dat de hoge nikkeltranslocatie van de wortel naar het blad bij de Zinkboerenkers mogelijk gemaakt wordt door een hoge concentratie His in de wortels, in combinatie met een lage capaciteit om met His gecomplexeerd Ni over de tonoplast te transporteren, waardoor de vacuolaire retentie van Ni in volwassen perifere wortelweefsels tegengewerkt wordt.

Tenslotte werden, om kandidaatgenen voor nikkelaccumulatie en –tolerantie te identificeren, de transcriptprofielen vergeleken van LC en MP, en van hoog- en laagaccumulerende, en hoog- en laagtolerante F4 families van de LC x MP kruising. Hiertoe werd gebruik gemaakt van de Agilent3 micro-array, die het gehele genoom van Arabidopsis bestrijkt. Meer dan drievoudige verschillen in expressie werden

slechts bij een klein aantal genen aangetroffen. Daaronder bevonden zich geen genen die op enigerlei wijze met de metaalhuishouding in verband gebracht kunnen worden. Het lijkt er op dat de sterke verschillen in de expressie van grote aantallen metaalgerelateerde genen, zoals die in vergelijkingen tussen hyperaccumulatoren en niet-hyperaccumulatoren gevonden is, niet gevonden worden bij intraspecifieke vergelijkingen van verschillende populaties of selectielijnen van een hyperaccumulerende soort, ondanks de soms grote fenotypische verschillen in accumulatie en tolerantie. Het is denkbaar dat expressieregulatie op eiwitniveau of subtiele structurele veranderingen in de eiwitstructuur hierbij een rol spelen.